Aus dem Medizinischen Institut für Umwelthygiene
an der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. med. H.-W. Schlipköter
Abteilung für expermentelle Pathologie
Leiter: Professor Dr. med. W. Hilscher

Vergleichende Autoradiographische Untersuchungen zur Kinetik fetaler weiblicher und männlicher Gonien der Maus zwischen den Tagen 13.5 und 14.5 post conceptionem (p.c.)

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Birgit Merz
und
Irmgard Schulze Wischeler

1983

Aus dem Medizinischen Institut für Umwelthygiene
an der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr.med. H.-W. Schlipköter

Abteilung für experimentelle Pathologie

Leiter: Professor Dr.med. W. Hilscher

Vergleichende Autoradiographische Untersuchungen zur Kinetik fetaler weiblicher und männlicher Gonien der Maus zwischen den Tagen 13.5 und 14.5 post conceptionem (p.c.)

D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Birgit Merz

und

Irmgard Schulze Wischeler

1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543909_0102

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez.: Prof.Dr.med. H. Th. Brüster

Referent:
gez.: Prof.Dr.med. W. Hilscher

Korreferent:
gez.: Prof.Dr.med. N. Hofmann

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Material und Methodik	3
Tabelle 1 (Materialübersicht)	4
Resultate	6
Diskussion	7
Zusammenfassung	11
Literatur	12

Einleitung

Ausgedehnte autoradiographische und enzymhistochemische Untersuchungen weiblicher und männlicher Gonaden von Rattenembryonen und -feten haben ergeben, daß sich die frühen Keimbahnzellen aus drei unterschiedlichen Geschlechtszell- Kategorien zusammensetzen:
Primordialen Geschlechtszellen - PGC - ,
Oogonien und M-Prospermatogonien - OOG und MPSG - ,
Oocyten und T-1-Prospermatogonien - ooc und tpsg -.

Weibliche und männliche PGC sowie OOG und MPSG zeigen keine nennenswerte Unterschiede in ihrer Kinetik, ihrer RNA-Synthese, ihrem Enzymmuster und ihrer Sensibilität gegenüber ionisierenden Strahlen und Cytostatica (Hilscher und Hilscher, 1981; Hilscher, 1983). Mit der Entstehung der ooc und tpsg gehen die beiden Geschlechtszell-Linien getrennte Wege (Hilscher, 1981, 1983). Nach dem Postmitosestadium durchlaufen die ooc das Präleptotänstadium mit der DNA-Synthese-Phase - S-Phase - und danach die verschiedenen Stadien der meiotischen Prophase. Die tpsg dagegen bleiben "ameiotisch".

Es war daher naheliegend, den Entwicklungsabschnitt der weiblichen und männlichen Geschlechtszell-Linie kurz vor der Entstehung der ooc und tpsg zu untersuchen, um erste Hinweise über mögliche Ursachen der unterschiedlichen Differenzierung dieser beiden Geschlechtszelltypen zu erhalten. Solche Untersuchungen sind in der Vergangenheit von Hilscher und Hilscher (1978) sowie von Brandenbusch (1980) an R a t t e n durchgeführt worden. Mit Hilfe der autoradiographischen Methode der markierten Mitosen (genauer Metaphasen) von Quastler und Sherman (1959) gelang es, nachzuweisen, daß die Generationszeit und die S-Phasen-Dauer von OOG und MPSG in der gleichen Größenordnung liegen. Darüber hinaus ergaben die Untersuchungen, daß die S-Phasen-Dauer der MPSG etwas länger war als die der OOG (Hilscher und Hilscher, 1978; Brandenbusch,1980). Dies war ein Indiz für ein erstes unterschiedliches Verhalten von frühen weiblichen und männlichen Keimbahn- bzw. Geschlechtszellen.
Um der Frage nach einer unterschiedlichen S-Phasen-Dauer von OOG und MPSG am Ende ihrer Proliferationsaktivität nachzugehen, schien es sinnvoll, entsprechende autoradiographische Untersuchungen bei einer anderen Species zu wiederholen. Die Wahl fiel auf die M a u s , weil diese in vielen genetischen Eigenheiten dem Menschen ähnlich ist und von den Genetikern gern als Modell für Untersuchungen der Keimbahn bzw. Gametogenese herangezogen wird.

Voraussetzung für die geplanten autoradiographischen Untersuchungen war die Erfassung des Zeitabschnitts, in dem die Proliferationsphase von OOG und MPSG ausläuft. Brall (1981) konnte in einer Pilotstudie nachweisen, daß dies bei der NMRI-Maus zwischen dem 14. und 16. Fetaltag der Fall ist.

Anhand der von ihm durchgeführten Zählungen ergaben sich folgende Werte für die Mitose-Indices (Prozentsatz der Mitosen an der Gesamtzellpopulation) der OOG:

32.3% am Tage 14 p.c.,
1.1% am Tage 15 p.c.,
0.5% am Tage 16 p.c.,
0.0% am Tage 17 p.c.

und der MPSG

24.6% am Tage 14 p.c.,
2.2% am Tage 15 p.c.,
1.4% am Tage 16 p.c.,
0.0% am Tage 17 p.c.

Da ein nennenswerter Mitose-Index für beide Geschlechtszelltypen - OOG und MPSG - nur am 14. Fetaltag gefunden wurde, diente dieser Zeitpunkt als Basis für die geplanten autoradiographischen Untersuchungen, bei denen ein modifiziertes Verfahren der Methode der markierten Mitosen von Quastler und Sherman (1959) zur Anwendung kam. Mit dieser Methode lassen sich u.a. die Dauer der S-Phase und die Generationsphase proliferierender Zellsysteme bestimmen.

Wenn eine Zelle DNA synthetisiert, kann sie 3-H-Thymidin einbauen und so markiert werden. Durch Variieren des Intervalls zwischen der stets zur gleichen Tageszeit stattfindenden Injektion von 3-H-Thymidin und der Tötung der Tiere kann man die Wanderung der in der S-Phase markierten Zellen über die Mitose verfolgen, indem man den Prozentsatz markierter Mitosen bestimmt (Fig.1). Da der niedrige Mitose-Index an den Tagen 15 und 16 p.c. eine sinnvolle Anwendung der Methode der markierten Mitosen von Quastler und Sherman (1959) nicht zuläßt, wurde diese Methode nach einem von Brandenbusch (1980) angegebenen Verfahren modifiziert: Der Tötungstermin wurde mit 15 Uhr des Tages 14 p.c. festgesetzt und die Injektionstermine variiert (Fig.2).

Material und Methodik

Jeweils 10 weibliche Mäuse (NMRI, 2 Monate alt) wurden zur Synchronisation ihrer Zyklen mit einem Männchen in Sicht- und Geruchskontakt in einen Käfig gesetzt, wobei das Männchen zunächst für drei Tage durch ein Gitter von den Weibchen getrennt war. Nach Ablauf des dritten Tages wurde das Gitter für eine Nacht entfernt; am nächsten Morgen wurden die Tiere nach Geschlechtern getrennt. Der Tag nach der Trennung von den Männchen galt als erster Trächtigkeitstag = erster Tag post conceptionem (p.c.). Mit dieser Versuchsanordnung wurde eine Erhöhung der Konzeptionsrate bezweckt. Gravide Tiere fielen durch eine Zunahme des Abdominalvolumens auf. Am 14. Trächtigkeitstag um 15 Uhr, d.h. 14.5 p.c., wurden die Muttertiere und die Feten getötet. Vorher hatten die Muttertiere intraperitoneal im Abstand von 0.5 Stunden - es wurde ein Zeitabschnitt von 0.5 bis 24 Stunden untersucht - 200 uCi 3H Thymidin/30g Körpergewicht erhalten.

Übersicht über die Anzahl der untersuchten Tiere:

Std.	Nr. der	Weibliche Feten	Männliche Feten	Std.	Nr.	Weibliche Feten	Männliche Feten
0.5	I	2	3	12.5	I	2	2
	II	2	2		II	2	2
1	I	4	2		III	2	2
	II	2	2	13	I	2	2
1.5	I	3	2		III	2	2
	II	2	2	13.5	I	2	2
2	I	4	3		III	2	2
	II	2	2	14	I	2	2
2.5	I	2	2		II	2	2
	II	2	2		III	2	2
3	I	2	2	14.5	I	2	2
	II	2	2		II	2	2
3.5	I	3	2	15	I	1	3
	II	2	2		II	3	2
4	I	2	3		III	1	0
	II	2	2	15.5	I	2	3
4.5	I	2	5		II	2	2
	II	2	2	16	I	2	3
5	I	2	2		II	2	2
	II	2	5	16.5	I	2	3
	III	2	2		II	2	2
5.5	I	3	2	17	I	3	2
	II	2	2		II	2	2
6	I	3	2	17.5	I	2	2
	II	2	2		II	2	2
6.5	I	2	2	18	I	2	2
	II	2	2		II	2	2
7	I	0	2	18.5	I	2	2
	II	2	2		II	2	2
	III	2	0	19	I	2	2
7.5	I	2	2		II	2	2
	II	2	2	19.5	I	2	2
8	I	2	1		II	2	2
	II	2	2	20	I	3	2
	III	0	1		II	2	2
8.5	I	2	2	20.5	I	2	2
	II	2	2		II	2	2
9	I	2	3	21	I	3	2
	II	2	2		II	2	2
9.5	I	2	2	21.5	I	2	2
	II	2	2		II	2	2
10	I	3	3	22	I	2	2
	II	1	2		II	2	2
10.5	I	2	2	22.5	I	2	2
	II	2	2		II	2	2
11	I	2	2	23	I	2	2
	II	2	2		II	2	2
11.5	I	2	2	23.5	I	2	2
	II	2	2		II	2	2
12	I	2	2	24	I	2	2
	II	2	2		II	2	2
	III	1	0				

Die Feten wurden in Bouin'scher Lösung fixiert und in Paraplast eingebettet. Es wurden 5 um dicke Serienschnitte des Anteils des Bauchsegments hergestellt, in dem die beiden Gonaden lagen. Die Autoradiogramme wurden mit K2-Emulsion (Ilford, Essex) hergestellt (Expostionszeit 14 Tage bei 4 Grad C) und nachträglich mit Hämalaun gefärbt. Pro Tier wurden je 100 Metaphasen der Gonien dahingehend untersucht, ob bzw. mit wievielen Silberkörnern sie markiert war. Eine Metaphase wurde im allgemeinen dann als markiert angesehen, wenn sie mindestens 4 Silberkörner aufwies. Bei extrem stark markierten Tieren wurde eine Markierung erst ab 8 Silberkörner angenommen.

Ergebnisse

Fig.3 enthält das Ergebnis der autoradiographischen Untersuchungen der Metaphasen von OOG und MPSG in Form zweier Kurven zwischen den Tagen 13 und 14 p.c.: Der Prozentsatz markierter Metaphasen an der Anzahl aller ausgewerteter Metaphasen von OOG und MPSG ist als Funktion der Zeit zwischen der Injektion von 3-H-Thymidin und der Tötung der Feten dargestellt. Eingezeichnet sind die geometrischen Mittelwerte und deren Vertrauensbereiche. Die Kurven basieren auf der Prämisse, daß Metaphasen mit vier und mehr Silberkörnern markiert sind. Deutlich erkennt man bei beiden Kurven ein gut ausgeprägtes 1. Maximum mit sehr schön ausgebildetem Kurvenabfall und ein - vor allem bei den OOG - nicht so gut ausgebildetes 2. Maximum markierter Metaphasen. Der 2. Anstieg der Kurve, d.h. der Anstieg zum 2. Maximum signalisiert, daß die markierten Metaphasen zum Zeitpunkt der Injektion DNA-synthetisierende "Mutterzellen" derjenigen OOG und MPSG waren, deren Metaphasen das 1. Maximum bilden. Das Intervall zwischen erstem und zweiten Anstieg der Kurven ist gleich der minimalen Generationszeit, das Intervall zwischen den Schwerpunkten des 1. und 2. Maximum ist gleich der mittleren Generationszeit.
Die gewonnenen Kurven zeigen, daß

(1) die biologischen Schwankungen sehr groß sind,

(2) der generelle Verlauf der Kurven markierter Metaphasen bei OOG und MPSG übereinstimmt und damit die Generationszeit und die Dauer ihrer Teilphasen in der gleichen Größenordnung liegen,

(3) der Kurvenanstieg bei den MPSG etwas früher erfolgt als bei den OOG, der Kurvenabfall dagegen mehr oder weniger zeitgleich ist und mithin die Werte für die G-2-Phasen-Dauer bei den MPSG etwas niedriger, die S-Phasen-Dauer aber höher liegen als bei den OOG.

(4) Nach dem halbe-Höhe-Kurve-Verfahren, bei welchem die S-Phasen-Dauer als Intervall zwischen der halben Höhe des Anstiegs und der halben Höhe des Abfalls der markierten Metaphasenkurve bestimmt wird (Fig.3, Pfeile), betragen die Werte für die S-Phasen-Dauer der OOG 6,3 Stunden und für die S-Phasen-Dauer der MPSG 7,4 Stunden. Das ist über eine Stunde Differenz!
Die Dauer für die minimale Generationszeit T min - bestimmt als Zeitintervall zwischen dem Anstieg des ersten und des zweiten Maximums (Fig.3, Pfeilköpfe) - beträgt für beide Geschlechtszellpopulationen 14 - 15 Stunden. Die Dauer für die mittlere Generationszeit T medium konnte wegen des breiten "verschmierten" zweiten Maximums nicht bestimmt werden.

Diskussion

Nach Neumann (1977) erfolgt die Sexualdifferenzierung in 4 Schritten (Fig.4):

(1) Mit der Vereinigung der beiden Gameten und der Bildung der Cygote wird im e r s t e n Entwicklungsschritt das genetische bzw. chromosomale Geschlecht festgelegt.

(2) Aus den noch undifferenzierten Gonaden entstehen im z w e i t e n Entwicklungsschritt Ovarien oder Testes. Für die Differenzierung der Gonaden in Ovarien sind keine Induktoren erforderlich, für die Differenzierung in Testes wird das H-Y-Antigen verantwortlich gemacht (Wachtel et al. 1975 a,b; Wolf, 1978). Nach Müller (1983) sind zur Expression des H-Y-Antigens mindestens 3 Gene notwendig:
(a) Regulatorgene auf beiden Gonosomen,
(b) (ein) Strukturgen/e/ auf einem Autosom.
Bei genetisch weiblichen Individuen entgehen die repressiven Regulatorgene auf den X-Chromosomen ihrer Inaktivierung und unterbinden damit die vom Strukturgen ausgehende Information vollständig. Bei genetisch männlichen Individuen hingegen aktiviert das induzierende Regulatorgen auf dem Y-Chromosom das Strukturgen. Diese Aktivierung erfolgt entweder durch Inaktivierung der repressiven Information seitens des Regulatorgens auf dem X-Chromosom oder durch konkurrierende Wirkung auf einem vermuteten Promotorgen für das H-Y-Strukturgen. Fehlt durch einen Defekt der gonadenspezifische Rezeptor für das H-Y-Antigen, der von einem auf dem X-Chromosom gelegenen Strukturgen codiert wird, so bleiben die Gonaden "undifferenziert" und entwickeln sich zu einem Ovar.

(3) Im Anschluß an die Festlegung des gonadalen Geschlechts erfolgt in einem d r i t t e n Entwicklungsschritt die somatische Geschlechtsdifferenzierung.
Für die Differenzierung in ein typisches weibliches Genitale ist keine hormonelle Stimulation erforderlich, für die Differenzierung in ein typisches männliches Genitale sind zwei Faktoren verantwortlich:
(a) Androgene,
(b) das "Anti Müllerian Hormone", ein Peptidhormon.

(4) In einem v i e r t e n Entwicklungsschritt erfolgt die psychische Geschlechtsdifferenzierung. Auch die Differenzierung des psychischen Geschlechts ist davon abhängig, ob Androgene einwirken oder nicht. Im ersteren Fall wird das psychische Geschlecht männlich, im zweiten weiblich.

Für die vorliegenden Untersuchungen ist der Entwicklungsabschnitt zwischen Schritt 2 und 3 wichtig, in welchem beim männlichen Geschlecht durch die induzierende Wirkung des H-Y-Antigens aus den somatischen Zellen folgende Zellkategorien hervorgehen:

(1) die Stützzellen, die Vorläufer der Sertolizellen,

(2) die primordialen Wandzellen, die Vorläufer der Kanälchenwandzellen - darunter auch die myoiden Zellen - sowie möglicherweise auch die Vorläufer der peritubulären Leydigzellen,

(3) die intertubulären Leydigzellen.

Nach bisher vorliegenden histologischen Untersuchungen von Tröscher et al. (1975) sowie Erdtracht et al. (1976) an weiblichen und männlichen Gonaden von Rattenfeten geht die durch das H-Y-Antigen induzierte Differenzierung der somatischen Zellen zu Stützzellen, primordialen Wandzellen und intertubulären Leydigzellen dem mittleren Abschnitt und Endabschnitt der MPSG-Proliferation voraus, möglicherweise sogar dem Anfangsabschnitt der Proliferation.
Nach den Untersuchungen von Rüsse (1983) beginnt die Proliferation der OOG bei Rindern und Schafen durch Teilung einer "isoliert" vorkommenden PGC. Dies trifft nach den Angaben von Hilscher (1983) auch für die OOG und MPSG der Ratte zu, die im Gegensatz zu den isoliert vorkommenden PGC durch interzelluläre Brücken miteinander verbunden sind und zusammenhängende Zellgruppen (synchronized clusters) bilden. Die den OOG und MPSG vorgeschalteten isoliert vorkommenden PGC fungieren als "founder cells". Der Begriff der "founder cell" besagt, daß eine solche Zelle am Beginn der Proliferation einer Zell-Linie steht, die zur Produktion eines Clons gleichartiger Zellen führt (Crick und Lawrence, 1975; Lawrence, 1977; McLaren, 1980). Im Unterschied zu "Stammzellen" besitzen "founder cells" n i c h t die Fähigkeit, Tochterzellen zu produzieren, die entweder wiederum Stammzellen oder aber differenziertere Zellen sind: sie können sich nur in einer Richtung weiter entwickeln und differenziertere Tochterzellen bilden.

Anhand eines von McLaren (1976) entwickelten und angegebenen Modells diskutiert Hilscher (1983 b) eine mögliche Stimulierung der Geschlechtszellen, sich bereits im Stadium der MPSG in "männlicher Richtung" zu differenzieren (Fig. 5):
Undifferenzierte, aus den PGC hervorgegangene Gonien können sich, beeinflußt durch das umgebende Milieu, in drei Etappen bzw. Phasen zu eindeutig weiblichen oder männlichen Geschlechtszellen differenzieren.
Das umgebende Milieu kann drei unterschiedliche induzierende Eigenschaften besitzen:
Im System 1 mit dem Milieu XX entwickeln sich die Gonien in eindeutig weiblicher Richtung,
im System 2 mit dem neutralisierenden Milieu OO bleiben die Gonien undifferenziert,
im System 3 mit dem Milieu XY entwickeln sich die Gonien in eindeutig männlicher Richtung.
Die Entwicklung erfolgt in 3 Phasen:
Undifferenzierte Gonien, die während der ersten Phase aus dem XX-Milieu in das XY-Milieu gelangen, entwickeln sich in männlicher Richtung und umgekehrt entwickeln sich undifferenzierte Gonien, die aus dem XY-Milieu in das XX-Milieu gelangen in weiblicher Richtung. In das neutralisierende Milieu OO gebracht, bleiben die sowohl aus dem XX-Milieu als auch aus dem XY-Milieu stammenden Gonien undifferenziert.
Gonien, die während der zweiten Phase aus dem XX-Milieu in das XY-Milieu gelangen und umgekehrt, entwickeln sich noch in männlicher Richtung bzw. in weiblicher Richtung, werden also noch "umgepolt". In das neutralisierende Milieu OO gebracht, entwickeln sich die Gonien, je nachdem aus welchem Milieu sie stammen, in weiblicher oder männlicher Richtung.
Geschlechtszellen, die während der dritten Phase aus dem XX-Milieu in das Milieu OO und das XY-Milieu gebracht werden, entwickeln sich in weiblicher Richtung, und das gleiche gilt für Geschlechtszellen, die aus dem XY-Milieu in das XX-Milieu übertragen werden: sie entwickeln sich zu männlichen Geschlechtszellen.
Während der ersten Phase sind die Geschlechtszellen noch undifferenziert, während der zweiten reversibel determiniert und während der dritten irreversibel determiniert.
In dem vorliegenden diskutierten Modell stellt das Ovar das XX-Milieu und der Testis das XY-Milieu dar. Wie verhält es sich aber mit dem neutralisierenden Milieu OO ? Existiert ein solches überhaupt?
Hinweise für die Existenz eines solchen Milieus OO finden sich in der Tat sowohl im Ovar als auch im Testis. Zu Beginn der meiotischen Prophase treten bei den weiblichen Geschlechtszellen sogenannte "atretische" Prophasen und Metaphasen auf, die degenerierende Zellen darstellen (Mauleon, 1967, Dorten und Peschel, 1980). Bei Mäusen kommen degenerierende Mitosen, die denen der weiblichen Geschlechtszellen ähnlich sind, auch bei männlichen Feten vor, wie die vorliegenden Befunde ergeben haben. Als eine der möglichen Ursachen für die erfolgende "Atresie" bzw. Degeneration kann ein lokales Milieu OO diskutiert werden.

Es war das Ziel der vorliegenden Arbeit festzustellen, ob bei der Maus die unmittelbaren Vorläufer der ooc, die OOG, eine etwas kürzere S-Phasen-Dauer besitzen als die MPSG, die Vorläufer der tpsg. Untersuchungen an Rattenfeten hatten ergeben, daß die letzten Generationen der OOG eine um etwas mehr als 1 Stunde kürzere S-Phasen-Dauer aufweisen als die zur gleichen Zeit proliferierenden MPSG. Wie die Auswertungen des vorliegenden sehr umfangreichen Materials ergaben, besitzen die OOG in der Tat auch bei der Maus eine kürzere S-Phasen-Dauer als die MPSG: Während die S-Phasen-Dauer der OOG bei 6,3 Stunden liegt, beträgt sie für die MPSG 7,4 Stunden. Über die Generationszeiten T läßt sich hingegen nur aussagen, daß sie bei etwa 14 bis 15 Stunden liegen dürften. Wegen des zu breiten "verschmierten" zweiten Maximums läßt sich jedoch nur die T min , d.i. das Intervall zwischen den Anstiegen zum ersten und zum zweiten Maximum, annähernd bestimmen.

In diesem Zusammenhang sind die Untersuchungen von Monk und McLaren (1981) über die Aktivierung und Inaktivierung der X-Chromosomen von großem Interesse. Bis zum Ende der Blastogenese, wenn Epiblast (primäres Ectoderm) und Entoblast (primäres Entoderm) ausgebildet sind, d.i. bei der Maus der Tag 6 p.c., verfügen die Zellen des Epiblasts über 2 aktive X-Chromosomen. Die aus dem Epiblast hervorgehenden PGC und deren Abkömmlinge, die OOG, besitzen dagegen nur ein aktives X-Chromosom. Wie Monk und McLaren (1981) nachweisen konnten, sind dagegen bei den ooc offensichtlich wieder beide X-Chromosomen aktiv. Die Aktivität des zweiten X-Chromosoms wurde bei diesen Untersuchungen durch Messungen der Produktionsmenge von HPRT (Hypoxanthin-phosphoribosyl-transferase) bestimmt, eines Enzyms, das nur vom X-Chromosom codiert wird. Wie aus Fig.6 dieser Arbeit hervorgeht, liegen die Werte für die Relation der Produktion von HPRT zu der der APRT (Adenin-phosphoribolsyl-transferase), eines Enzyms, das von einem Autosom codiert wird, während der Oogonienproliferation wesentlich niedriger als zur Zeit der Oocytenentwicklung. Unterstrichen wird dieser Befund durch einen Vergleich der Relation HPRT/APRT von ooc und tpsg (die ja nur ein x-Chromosom besitzen): Die ooc produzieren wesentlich größere Mengen von HPRT als die tpsg! Daraus schließen die beiden Autorinnen auf einen Wechsel vom Zustand der Inaktivierung eines der beiden X-Chromosomen in einen Zustand, in dem beide X-Chromosomen aktiviert bzw. aktiv sind. Allerdings fällt auf, daß die Werte für die Relation der Produktion von HPRT/APRT schon während der Proliferation der OOG geringfügig höher liegen als während der Vermehrung der MPSG. Möglicherweise steht dieser Befund mit dem in der vorliegenden Arbeit gemachten Beobachtung in Einklang, daß die S-Phasen-Dauer der OOG kürzer ist als die der MPSG.

Zusammenfassung

103 trächtige Mäuse erhielten 0.5 Stunden bis 24 Stunden vor ihrer Tötung am 14. Trächtigkeitstag um 15 Uhr in halbstündigen Abständen eine einmalige i.p. Gabe von 3-H-Thymidin. Die Gonaden der weiblichen und männlichen Feten wurden autoradiographisch untersucht. Bestimmt wurde der Prozentsatz 3-H-markierter Metaphasen von Oogonien und M-Prospermatogonien pro Tötungstermin.

Nach dem halbe-Höhe-Kurve-Verfahren, bei welchem die S-Phasen-Dauer als Intervall zwischen der halben Höhe des Anstiegs und der halben Höhe des Abfalls der markierten Metaphasenkurve bestimmt wird, betragen die Werte für die S-Phasen-Dauer der Oogonien 6.3 Stunden und für die S-Phasen-Dauer der M-Prospermatogonien 7.4 Stunden. Demnach ist die S-Phasen-Dauer der Oogonien über eine Stunde kürzer als die der M-Prospermatogonien. Die Bedeutung dieses Befundes wird ausführlich diskutiert.

Die Dauer für die minimale Generationszeit T min - bestimmt als Zeitintervall zwischen dem Anstieg des ersten und des zweiten Maximums - beträgt für beide Geschlechtszellpopulationen 14 - 15 Stunden. Die Dauer für die mittlere Generationszeit T medium - bestimmt als Zeitintervall zwischen den Schwerpunkten des ersten und des zweiten Maximums - konnte wegen des breiten "verschmierten" zweiten Maximums nicht bestimmt werden.

Literatur

Brall, K.: Histologische Untersuchungen zur Proliferation weiblicher und männlicher fetaler Geschlechtszellen bei NMRI-Mäusen. Inaug. Dissertation, Düsseldorf (1981).

Brandenbusch, I.: Vergleichende autoradiographische Untersuchungen zur Kinetik fetaler weiblicher und männlicher Gonien des Modelltiers Ratte zwischen den Tagen 15.6 und 17.0 post conceptionem (p.c.). Inaug. Dissertation, Düsseldorf (1980).

Crick, F.H.C. & Lawrence, P.A.: Compartments and polyclones in insect development.
Science 189, 340-347 (1975).

Dorten, R. & Peschel, Ch.: Vergleichende Untersuchungen über den Mitose-Index und den Degenerations-Index der fetalen weiblichen und männlichen Geschlechtszellen zwischen den Tagen 17 p.c. 2 Std. und 17 p.c. 22 Std..
Inaug. Dissertation, Düsseldorf (1980).

Erdtracht, A., Glotzbach, B, Junker, E., Knebel-Werdehausen, K., Lakomek, H.-J. & Werdehausen, K.: Quantitative Untersuchungen der weiblichen und männlichen Geschlechtszellpopulationen zu Beginn der Gonadendifferenzierung und Rekonstruktion einer männlichen Gonade bei Wistarratten.
Inaug. Dissertation, Düsseldorf (1976).

Hilscher, B. & Hilscher, W.: Kinetics of gametogenesis. II. autoradiographic studies of oogonia and multiplying prospermatogonia of the Wistar Rat.
Cell. Tiss. Res. 190, 61-68 (1978).

Hilscher, B. & Hilscher, W.: Some details on the kinetics of oogonia and M-prospermatogonia in NMRI mice in comparison to rat and man; in Byskov and Peters, Development and Function of reproductive organs, pp. 131-139 (Excerpta Medica, Amsterdam 1981).

Hilscher, W.: T-1-prospermatogonia (primordial spermatogonia of Rauh): the "ameiotic" counterpart of early oocytes;
in Holstein, Schirren, Stem cells in spermatogenesis.
Adv. Androl. 7, 21-32 (1981).

Hilscher, W.: Problems of the Keimbahn;
in Hilscher, Problems of the Keimbahn.
Biblthca anat. 24, 1-21 (Karger, Basel 1983).

Hilscher, W.: Derzeitige Keimbahnprobleme.
Humangenetisches Kolloquium, Göttingen, 1983.

Lawrence, P,A.: Compartments in the development of Drosophila:
a progress report;
in Karkinen-Jääskeläinen and Saxen, Cell interactions in differentiation, pp. 89-95 (Academic Press, London 1977).

McLaren, A.: Determination/differentiation: General discussion;
in Ciba Foundation Symposium 40 (news series), Embryogenesis in Mammals, pp. 103-110 (Elsevier/Excerpta Medica/North-Holland 1976).

McLaren, A.: Fate of germ cell in sex reversed mice.
Moritz-Nussbaum-Symposium: Differenzierung des Geschlechts bei Mensch und Säugetier. Kleinkonferenz der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Schloss Auel 1980.

Mauleon, P.: Cinetique de l'ovogenese chez les mammiferes.
Arch. Anat. Microscop. Morphol. Exptl. 56, Suppl. 3-4, 125-150 (1967).

Maurer-Schultze,B.: Various autoradiographic methods as a tool in cell growth studies;
in Nicolini, Cell growth, pp. 83-111 (Plenum Publishing Corporation, 1982).

Monk,M. & McLaren, A.: X-chromosome activity in foetal germ cells of mouse.
J. Embryol. exp. Morphol. 63, 75-84 (1981).

Müller, U.: Genetics of H-Y antigen and its gonad-specific receptor;
in Hilscher, Problems of the Keimbahn. Biblthca anat. 24, 111-118 (Karger,Basel 1983).

Müller, V.O., Friede, H.& Schultze,B.: Cell kinetic studies on the JB-1 ascites tumour of the mouse; FLM-method modified by double-labelling with 3-H- and 14-C-thymidine.
Cell Tissue Kinet. 15, 431-445 (1982).

Quastler,H. & Sherman,F.G.: Cell population kinetics in the intestinal epithelium of the mouse.
Exp. Cell Res. 17, 420-438 (1959).

Rüsse,I.: Oogenesis in cattle and sheep;
in Hilscher, Problems of the Keimbahn.
Biblthca anat. 24, 77-92 (Karger, Basel 1983).

Schultze, B.: Double labeling autoradiography;
Cell kinetic studies with 3-H- and 14-C-thymidine.
J. Histochem. Cytochem. 29, 109-116 (1981).

Schultze,B., Kellerer, A.M. & Maurer,W.: Transit
times through the cycle phases of jejunal crypt
cells of the mouse; Analysis in terms of the
mean values and variances.
Cell Tissue Kinet. 12, 347-359 (1979).

Tröscher,W., Dieckmann, G., Specht, H. M. & Lennartz, H. G.:
Histologische und autoradiographische Untersuchungen
zur Kinetik der Geschlechtszellen der Wistarratte
vom 13. Embyonal- bis zum 15. Foetaltag.
Inaug. Dissertation, Düsseldorf (1975).

Wachtel, S.S., Koo, G.C. & Boyse, E.A.: Evolutionary
conservation of H-Y ("male") antigen.
Nature (London) 254,270-272 (1975).

Wachtel, S.S., Ohno, S., Koo, G.C. & Boyse, E.A.: Possible
role for H-Y antigen in the primary determination of sex.
Nature (London) 257, 235-236 (1975).

Wartenberg,H.: Human testicular development and the role of the
mesonephros in the origin of a dual Sertoli cell system.
Andrologia 10, 1-21 (1978).

Wartenberg, H.: Differentiation and development of the testes;
in Burger, de Kretser, The testis, pp 39-80 (Raven Press,
New York 1981).

Wartenberg, H.: Germ cell migration induced and guided by
somatic cell interaction;
in Hilscher, Problems of the Keimbahn.
Biblthca anat. 24, 93-110 (Karger, Basel 1983).

Wolf, U.: Gonadendifferenzierung und H-Y-Antigen.
Verh. Anat. Ges. 73, 379-384 (1978).

Legenden:

Fig.1 Schema zur Erläuterung des ³markierte-Mitose-Verfahrens (Hollweg, 1966).

Fig.2 Schema zur Erläuterung des modifizierten Verfahrens des ³markierte-Mitose-Verfahrens (Brandenbusch, 1980).

Fig.3 Mittelwerte und deren Vertrauensbereiche des Prozentsatzes der Metaphasen von Oogonien und M-Prospermatogonien am Tag 14 p.c. zu verschiedenen Zeitpunkten nach einmaliger i.p. Injektion von 3-H-Thymidin (1/2 - 24 Stunden vor der Tötung). Der schraffierte Bereich deckt den vermutlichen Kurvenverlauf und die Streuung ab.

Fig.4 Zeitlich aufeinanderfolgende Schritte der Sexualdifferenzierung und Möglichkeiten der Störung (Neumann, 1977).

Fig.5 Entwicklung der "frühen Keimbahnzellen" im "weiblichen" XX-Milieu, im "männlichen" XY-Milieu und im neutralisierenden OO-Milieu (Hilscher, 1983; modifiziert nach einem Modell von McLaren, 1976).

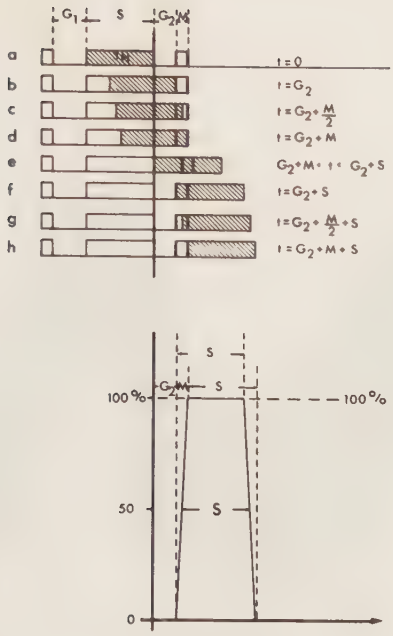

G1
S
G2M
a
b
c
d
e
f
g
h
t = 0
t = G2
t = G2 + M/2
t = G2 + M
G2 + M < t < G2 + S
t = G2 + S
t = G2 + M/2 + S
t = G2 + M + S
S
G2M
S
100 %
100 %
50
S
0

Fig.1

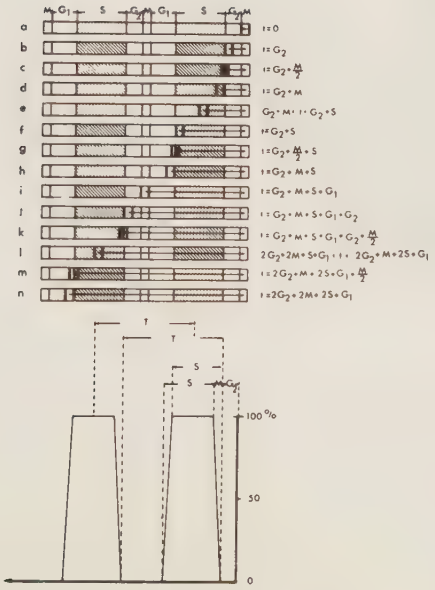

M G1
S
G2M
G1
S
G2M
a
b
c
d
e
f
g
h
i
j
k
l
m
n
t = 0
t = G2
t = G2 + M/2
t = G2 + M
G2 + M < t < G2 + S
t = G2 + S
t = G2 + M/2 + S
t = G2 + M + S
t = G2 + M + S + G1
t = G2 + M + S + G1 + G2
t = G2 + M + S + G1 + G2 + M/2
2G2 + 2M + S + G1 < t < 2G2 + M + 2S + G1
t = 2G2 + M + 2S + G1 + M/2
t = 2G2 + 2M + 2S + G1
T
T
S
S
G2M
100 %
50
0

Fig. 2

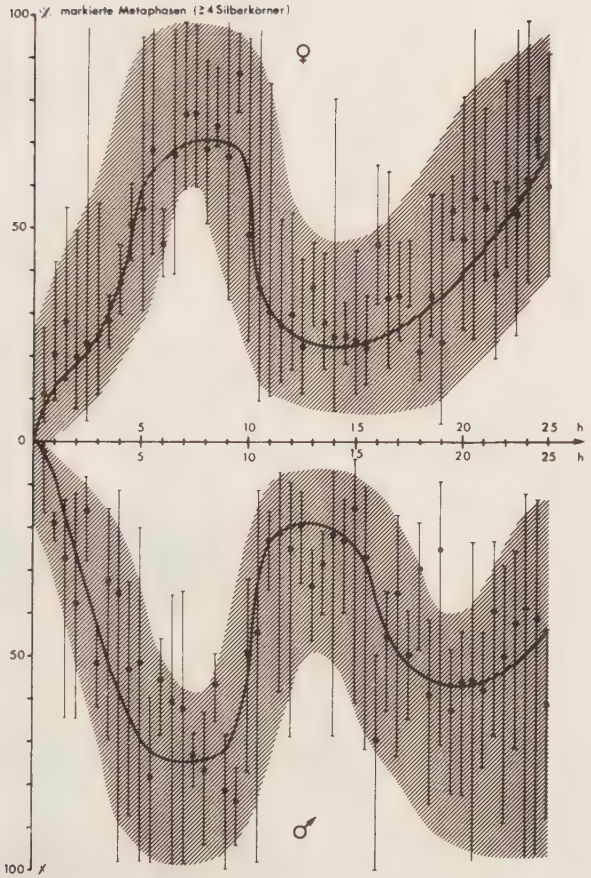
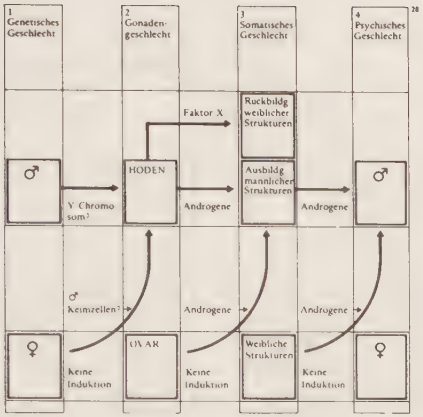

100 % markierte Metaphasen (≥ 4 Silberkörner)
♀
50
0
5
10
15
20
25 h
5
10
15
20
25 h
50
♂
100 %

Fig. 3



Zeitlich aufeinanderfolgende Schritte der Sexualdifferenzierung und Möglichkeiten der Störung

Fig.4

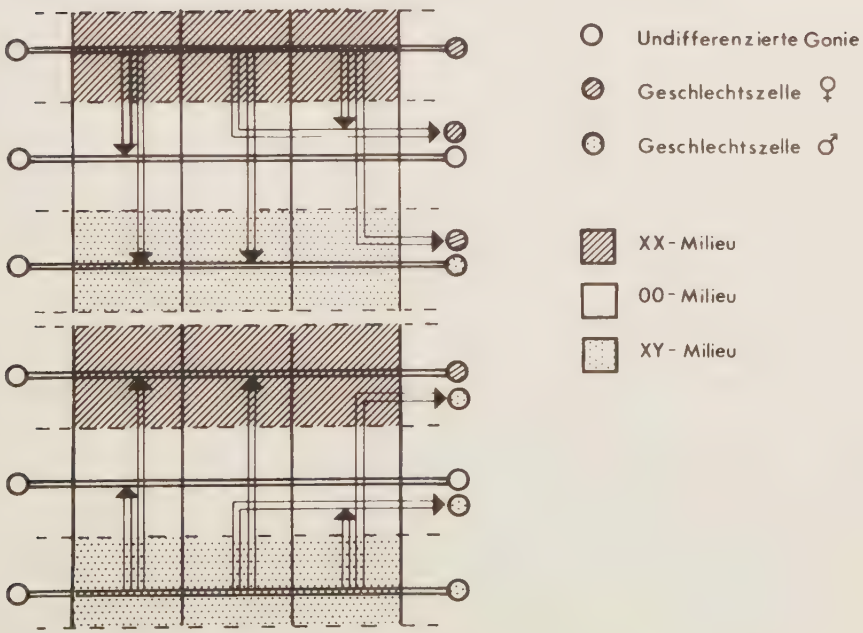


Fig.5

Lebenslauf: Birgit Merz

geb. 7.12.1957	Geburtsort: Brilon, Hochsauerlandkreis Eltern: Hubert Vollmers, Landwirtschaftsdirektor Maris Vollmers, geb. Höller, Hausfrau Geschwister: einen älteren Bruder, zwei jüngere Schwestern
April 1964-Juni 1968	Volksschule Brilon
August 1968-Juni 1977	Gymnasium Petrinum Brilon
Juni 1977	Abitur
WS 1977/78	Beginn des Medizinstudiums an der Universität Düsseldorf
Herbst 1979	Physikum
Herbst 1980	Erstes Staatsexamen
26.12.1981	Hochzeit mit Peter Merz
Herbst 1982	Zweites Staatsexamen
18.10.1982	Beginn des Praktischen Jahres am Bethesda-Krankenhaus, Duisburg-Hochfeld
Herbst 1983	Voraussichtlicher Termin für die Ärztliche Prüfung

Lebenslauf: Irmgard Schulze Wischeler

Geburtsdatum:	13.07.1958	
Geburtsort:	Hagen/Westfalen	
Eltern:	Hugo und Margot Schulze Wischeler, Apotheker	
Schulen:	1964-1968	Kath. Volksschule Kückelhausen/Hagen
	1968-1977	Mädchengymnasium Hildegardis-Schule, Hagen
	Mai 1977	Reifeprüfung
Hochschule:	WS 1977/78	Studienbeginn an der Universität Düsseldorf
	1979	Ärztliche Vorprüfung
	1980	1. Staatsexamen
	1982	2. Staatsexamen

z.Zt. im Praktischen Jahr an den
Städt. Krankenanstalten Neuss
- Lukas-Krankenhaus -

voraussichtliches Studienende:
November 1983